Published Online: 26 JUL 2022

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสแตปฟิโลคอคคัส ออเรียส จากน้ำมันถั่วดาวอินคา

A Study of Antibacterial Staphylococcus Aureus from Sacha Inchi Oil

อัยรินทร์ กนกเลิศวงศ์

อีเมล: 6352003283@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัควรรธน์ สิทธิประภาพร

อีเมล: wichian.sit@mfu.ac.th

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *s.aureus* ของน้ำมันถั่วดาวอินคา เป็นการศึกษาวิจัยในห้องปฏิบัติการ โดยมีตัวแปรต้นคือ น้ำมันถั่วดาวอินคา และมีตัวแปรตามคือ ฤทธิ์ต้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *s.aureus* ตัวอย่างพืชโดยน้ำถั่วดาวอินคา (sachi incha) จากอำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย และศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Disc diffusion method แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร Nutrient Broth (NB) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยทดสอบซ้ำจำนวน 5 ครั้ง และนำข้อมูลที่ได้จาก inhibition zone ไปหาค่าเฉลี่ย mean score และวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Independent t-test ผลการศึกษาพบว่า น้ำมันถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 100% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *s.aureus* ได้

คำสำคัญ: น้ำถั่วดาวอินคา, สแตปฟิโลคอคคัสออเรียส, ต้านเชื้อแบคทีเรีย, การยับยั้ง, ต่อต้านการเจริญเติบโต

Abstract

This research aims to test the anti-growth inhibition effect of *s.aureus* infections of Sacha inchi oil. It's a laboratory study. The default variables are: Sacha inchi oil and there are variables according to Anti-growth inhibition effect of *s.aureus* infection plant specimens by Sacha inchi oil (Sachi inches) from Mae Sai District, Chiang Rai Province and study the antibacterial effect. *Staphylococcus aureus* by Disc diffusion method, the

bacteria used in the test is *Staphylococcus aureus* by feed bacteria in Nutrient Broth (NB) food for 24 hours, bioactive test by retesting 5 times and take the information from inhibition zone to the mean score and analyzes data Independent t-test models. The results showed that Sacha inchi oil has 100% concentration can't inhibit gram-positive bacteria growth, *s.aureus*

Keyword: sacha inchi oil, staphylococcus aureus, antibacterial, inhibition, anti-growth

บทนำ

สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส *(Staphylococcus aureus* หรือเขียนย่อ ๆ ว่า *s.aureus)* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในวงศ์ *Micrococcaceae* มีรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่หรือเรียงตัวเป็นสายสั้น ๆ หรือเป็นลักษณะพวงองุ่น สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ อุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตได้คือ 15-45 องศาเซลเซียส และเจริญได้ในระดับความเข้มข้นของเกลือสูงถึงร้อยละ 15 ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น การติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อ และโรคอาหารเป็นพิษ (Todar, 2005) มีการสร้างเม็ดสีเหลืองในโคโลนีของเชื้อ *s.aureus* แต่บางครั้งอาจพบเป็นสีครีมได้ โดยเฉพาะเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อหลาย ๆ ครั้ง สีในโคโลนีเกิดจากสารประกอบพวกคาโรตีนอยด์ (Carotenoid) แต่การเกิดสีของโคโลนีจะมีความแตกต่างกันสูงมากในเชื้อแต่ละสายพันธุ์ เชื้อ *s.aureus* สามารถสร้างเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) ใช้กลูโคสได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ การจำแนกเชื้อ *s.aureus* จากเชื้อชนิดอื่น ๆ ของกลุ่ม *Staphylococcus* ใช้ความสามารถในการทำให้พลาสมาแข็งตัวเนื่องจากการสร้างเอนไซม์โคแอคกูเลส (Coagulase) (Easmon & Goodfellow, 1990) นอกจากนี้ แบคทีเรียกลุ่ม staphylococci สามารถพบได้ทั่วไปตามผิวหนังและเยื่อหุ้มบุผิวตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งนอกจากเป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกายแล้ว เชื้อแบคทีเรียบางชนิดในกลุ่มนี้เป็นเชื้อก่อโรคที่สามารถก่อโรคได้ทั้งในมนุษย์ และสัตว์ (Gordon & Lowy, 2008; Weese, 2010) เชื้อในกลุ่มนี้ยังแยกได้อีกสองกลุ่มย่อย คือ coagulase-positive staphylococci (CPS) และ coagulase-negative staphylococci (CNS) ซึ่งมักพบเชื้อ *Staphylococcus* ในคนและสัตว์เลือดอุ่นชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะในคนที่มีผิวหนังผิดปกติเช่น เป็นฝี แผลผ่าตัด แผลอักเสบ เป็นต้น เชื้อนี้ยังแยกได้จากสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข เป็ด ไก่ โค กระบือ สุกร ห่าน และในอาหารสัตว์ เชื้อ *s.aureus* ก่อให้เกิดโรค Mastitis ในสัตว์โดยเฉพาะโค กระบือ แพะ และแกะ *s.aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง Enterotoxin ที่พบในสัตว์ จะมีน้อยกว่าสายพันธุ์ที่พบในคน (Alberton et al., 2001) *s.aureus* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญที่ผิวหนังคนที่เป็นพาหะของเชื้อนี้ไม่ได้พบเฉพาะคนที่กำลังเป็นโรคเนื่องจากติดเชื้อนี้เท่านั้น แต่พบในคนที่มีสุขภาพดีด้วย นอกจากนี้ *s.aureus*

ยังพบตามส่วนอื่น ๆ ของร่างกายได้อีก เช่น ผิวหนัง จมูก คอ และผม บางครั้งพบในอุจจาระด้วย จมูกเป็นอวัยวะที่พบเชื้อ *s. aureus* มากที่สุด (ร้อยละ 10-40) และพบว่าในโพรงจมูกมีปริมาณเชื้อมากกว่า 10^3 CFU/swab ท้าให้เกิดการปนเปื้อนในอาหารได้ง่าย (Varnam & Evan, 1991) *s.aureus* มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมภายนอกได้ดีมากทำให้สามารถมีชีวิตอยู่ภายนอกร่างกายได้ดี มักพบว่าเมื่อคนเป็นพาหะของ *s. aureus* จับต้องอาหารด้วยมือจะทำให้เชื้อปนเปื้อนลงไปและอาจก่อให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษเมื่อบริโภคอาหารได้ (วันทนา อ่อนภิรมย์ และคณะ, 2538)

s.aureus สามารถสร้างสารพิษ Enterotoxin แบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ A, B, C1, C2, C3, D, E และ H ชนิดที่พบบ่อยซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษคือ A กับ D สารพิษนี้มี คุณสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อน ไม่ถูกทำลายแม้ต้มในน้ำเดือดครึ่งชั่วโมง และทนความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีสารพิษนี้ละลายได้ในน้ำและสารละลายเกลือ เชื้อ *s.aureus* จะสร้างสารพิษดังกล่าวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าที่ 25 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และสามารถทนต่อรังสีแกมมาในปริมาณที่อนุญาตให้ใช้กับอาหารได้อีกด้วย การได้รับสารพิษจะท้าให้ผู้ป่วยมีอาการอาเจียนและท้องร่วงอย่างรุนแรง บางสายพันธุ์ท้าให้เกิดกลุ่มอาการ Toxic shock syndrome โดยการสร้าง Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) ทำให้มีไข้สูง คลื่นไส้อาเจียน มีความดันต่ำ มีผื่นแดงตามตัว การทำงานของไตมักจะล้มเหลว และเกิดอาการช็อก (Siriwong & Chukeatirote, 2009) ดังนั้น *s.aureus* เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้ ทั้งนี้ในปัจจุบันจะพบว่าโรคติดเชื้อเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญ เนื่องจากมีแนวโน้มสูงขึ้นทุก ๆ ปี โดยจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อมีการปรับตัว ทำให้ดื้อยาปฏิชีวนะได้เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้สาเหตุของการดื้อยาอาจมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะเกินขนาดหรือใช้อย่างพร่ำเพรื่อ โดยปัจจัยดังกล่าวเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้มีอัตราการติดเชื้อเพิ่มสูงขึ้น โดยนักวิจัยพยายามหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าว จึงมีการศึกษาแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ โดยการนำสมุนไพรมาเตรียมเป็นสารสกัด ซึ่งสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดมีสมบัติต้านจุลินทรีย์ *s.aureus* ที่เป็นสาเหตุการติดเชื้อได้ การศึกษาสารสกัดที่ได้จากพืชสมุนไพรจึงได้รับความสนใจอย่างมาก ก่อนหน้านี้มีรายงานการศึกษาพืชสมุนไพรหลายชนิดในประเทศไทยที่นิยมใช้ในการชะลอวัย โดยดูฤทธิ์การต้าน *s.aureus* และพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดมีศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี หนึ่งในพืชที่น่าสนใจคือ ถั่วดาวอินคา ซึ่งจัดเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่ง ที่มีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย และมีสรรพคุณการชะลอวัยด้วยเช่นกัน โดยนักวิจัยพยายามหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าว จึงมีการศึกษาแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ โดยการนำสมุนไพรมาเตรียมเป็นสารสกัด ซึ่งสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดมีสมบัติต้านจุลินทรีย์ *s.aureus* ที่เป็นสาเหตุการติดเชื้อได้ การศึกษาสารสกัดที่ได้จากพืชสมุนไพรจึงได้รับความสนใจอย่างมาก ก่อนหน้านี้มีรายงานการศึกษาพืชสมุนไพรหลายชนิดในประเทศไทยที่นิยมใช้ในการชะลอวัย โดยดูฤทธิ์การต้าน

s.aureus และพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดมีศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี หนึ่งในพืชที่น่าสนใจคือ ถั่วดาวอินคา ซึ่งจัดเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่ง ที่มีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย และมีสรรพคุณการชะลอวัย ประกอบกับที่ผ่านมามีรายงานการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้ำมันจากพืชชนิดนี้ไม่มากนัก

ถั่วดาวอินคา (sacha inchi) มีลักษณะที่โดดเด่นคือ มีปริมาณกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูง (มากกว่า 45%) และยังมีกรดไขมันโอเมก้า 6 และ 9 อีกด้วย จากลักษณะการบริโภคไขมันในปัจจุบันพบว่ามีการบริโภคลดลงของปริมาณไขมันรวม ไขมันอิ่มตัว และปริมาณแคลอรี่ในอาหาร สมาคมโรคหัวใจแห่งสหรัฐอเมริกา ปี 2017 ยังสนับสนุนให้ลดการบริโภคไขมันอิ่มตัวและเปลี่ยนมาเป็นการใช้กรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้ประมาณ 30% สำหรับการบริโภคกรดไขมันโอเมก้า 3 มีการใช้อย่างแพร่หลายในการลดระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ส่งผลดีต่อการเพิ่มการไหลเวียนเลือด ลดการเกาะกลุ่มกันของลิ่มเลือด อีกทั้งพบความเชื่อมโยงกับการลดอุบัติการณ์การเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอีกด้วย (Hanssen & Schmitz-Hibsch, 2011) โดยแหล่งของโอเมก้า 3 ในอาหาร ได้แก่ น้ำมันปลา เช่น ปลาทูน่า ปลาแซลมอน และจากพืช เช่น เมล็ดแฟลกซ์ น้ำมันคาโนลา ถั่ววอลนัท รวมถึงถั่วดาวอินคาด้วย (Gutirrez et al., 2011; Wang et al., 2018)

ดาวอินคา (sacha inchi หรือ sacha peanut หรือ mountain peanut) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Plukenetia volubilis L.* เป็นพืชในวงศ์ *Euphorbiaceae* เช่นเดียวกับยางพารา สบู่ดำ หรือมันสำปะหลัง แต่ดาวอินคาเป็นพืชที่ผลมีรูปร่างคล้ายดาว ภายในผลดาวอินคามีเมล็ดคล้ายถั่ว ในบ้านเราจึงนิยมเรียกว่า ถั่วดาวอินคา ดาวอินคาเป็นไม้เลื้อยที่มีลำต้นสูงกว่า 2 เมตร กิ่งและยอดแผ่เลื้อยพันไปตามกิ่งไม้หรือ โครงสร้างเลื้อยพันอื่น ๆ ดาวอินคาเป็นพืชที่มีอายุยืน โดยเฉลี่ยต้นดาวอินคาจะมีอายุได้นาน 10-50 ปี ใบดาวอินคาเป็นใบเดี่ยว ยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร และมีความกว้างประมาณ 8-10 เซนติเมตร ส่วนของก้านของใบจะยาวประมาณ 2-7 เซนติเมตร ปลายใบมีรูปทรงเรียวแหลม เรียงสลับกันเป็นรูปหัวใจ ส่วนขอบใบหยักเป็นรูปร่างคล้ายเลื่อย ดอกดาวอินคาเป็นดอก ช่อลักษณะเดียวกับช่อกระจะ (raceme) ดอกดาวอินคา มีการแยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน ดอกเพศผู้จะมีขนาดเล็ก สีออกขาว เรียงเป็นกระจุกตลอดความยาวของช่อ ส่วนดอกเพศเมียจะมีประมาณ 2 ดอกอยู่ที่โคนช่อดอก ผลดาวอินคามีรูปร่างคล้ายดาว ลักษณะผลเป็นแบบแคปซูลเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-5 เซนติเมตร ผลมี 4-7 แฉก เมื่อยังโตไม่เต็มที่ ผลอ่อนดาวอินคาจะมีสีเขียวและสีจะค่อย ๆ เข้มขึ้นตามอายุ เมื่อผลแก่จะกลายเป็นสีน้ำตาลออกดำ มีเนื้อนุ่ม ๆ สีดำหุ้มอยู่อีกชั้นซึ่งเป็นส่วนที่รับประทานไม่ได้ โดยปกติจะทิ้งให้ผลดาวอินคาแห้งคาต้นก่อนเก็บเกี่ยว และเมื่อเก็บเกี่ยวแล้วจะต้องนำมาตากแดดอีก 1 วัน จึงจะนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้เมล็ดดาวอินคามีรูปร่างคล้ายถั่ว เมล็ดเป็นรูปไข่ มีสีน้ำตาลดำ ขนาดกว้าง 1.7-1.8 เซนติเมตร น้ำหนักเมล็ดราว ๆ

1.3-1.7 กรัม ทั้งนี้ เมล็ดดาวอินคาที่ยังดิบอยู่ไม่ควรนำมารับประทาน เพราะมีสารกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitor) แต่หากนำไปคั่วหรือทำให้สุกแล้วสามารถรับประทานได้

ในช่วงต้นศตวรรษที่ 20 ได้มีการเริ่มสกัดน้ำมันจากถั่วดาวอินคา เนื่องจากน้ำมันดังกล่าวมีปริมาณกรดไขมันแอลฟาไลโนเลอิก (α-linoleic acid) สูงถึงร้อยละ 49 และมีกรดไลโนเลอิก (linoleic Acid) ร้อยละ 36 ทำให้สามารถจัดน้ำมันถั่วดาวอินคาอยู่ในกลุ่มน้ำมันที่รับประทานได้มีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ซึ่งมีตารางเปรียบเทียบกรดไขมันในน้ำมันถั่วดาวอินคาและน้ำมันพืชชนิดอื่น ๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชแต่ละชนิด

สาระสำคัญ (ร้อยละ)	ชนิดของน้ำมันพืช						
	มะกอก	ถั่วเหลือง	ข้าวโพด	ถั่ว	ดอกทานตะวัน	ปาล์ม	ถั่วดาวอินคา
โปรตีน	2	28		23	24		33
ไขมันทั้งหมด	22	19		45	48		54
Palmitic acid	13	10.7	11	12	7.5	45	3.9
Stearic acid	3	3.3	2	2	5.5	4	2.5
Oleic acid	71	22.3	28	43.3	29.3	40	8.8
Linolic acid	10	54.5	58	368	57.9	10	36.8
Linoleic acid*	1	8.31	1	-	-	-	48.6

Note *no specification

ที่มา ดัดแปลงจาก Hanssen and Schmitz-Hübsch (2011)

เมล็ดถั่วดาวอินคาเป็นแหล่งของโปรตีนและน้ำมัน (ร้อยละ 35-60) โดยมีอัตราส่วนของ omega-6 /omega-3 อยู่ในช่วงร้อยละ 0.83–1.09 นอกจากนี้มี phytosterols ได้แก่ beta-sitosterol และ stigmasterol สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เช่น วิตามินอีในรูป tocopherols สารกลุ่มฟีนอลิก และแคโรทีนอยด์ ซึ่งสาระสำคัญที่พบในเมล็ดถั่วดาวอินคา เช่น กรดไขมันโดยเฉพาะ omega-3 และ phytosterols นั้นมีฤทธิ์ลดคอเลสเตอรอลในเลือด นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชัน เช่น tocopherols สารกลุ่มฟีนอลิก และแคโรทีนอยด์สามารถต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการออกซิเดชันของไขมัน ดังนั้นถั่วดาวอินคาและน้ำมันจากถั่วดาวอินคาอาจมีส่วนช่วยในการลดไขมันในเลือดและป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด จากการศึกษาทางคลินิกในอาสาสมัคร 30 คน ให้รับประทานน้ำมันถั่วดาวอินคา หรือน้ำมันเมล็ดทานตะวัน 10-15 มล.ต่อวัน เป็นเวลาสี่เดือน พบว่าทั้งกลุ่มที่รับประทานน้ำมันถั่วดาวอินคาและน้ำมันเมล็ดทานตะวันมีระดับคอเลสเตอรอลรวม (Total Cholesterol) และคอเลสเตอรอลชนิด LDL (Low Density Lipoprotein) ลดลง โดยเฉพาะกลุ่มที่รับประทานน้ำมัน ถั่วดาวอินคามีระดับคอเลสเตอรอลชนิด HDL (High Density Lipoprotein)

ในเลือดเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ได้รับประทานเฉพาะน้ำมันเมล็ดทานตะวัน นอกจากนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าทางชีวเคมีในเลือดที่ใช้ตรวจสอบความผิดปกติของตับ และไต โดยผลข้างเคียงที่พบมากที่สุดคืออาการคลื่นไส้ อาเจียน (กรมวิชาการเกษตร, 2560) ทั้งนี้ในปัจจุบันพบว่าโรคติดเชื้อเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญที่มีแนวโน้มสูงขึ้นทุก ๆ ปี ซึ่ง *Staphylococcus aureus* หรือ *s.aureus* เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น การติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อ โรคอาหารเป็นพิษ บางสายพันธุ์ทำให้เกิดอาการ Toxic Shock Syndrome ทำให้มีไข้สูง อาเจียน คลื่นไส้ มีความดันต่ำ มีผื่นแดงตามตัว การทำงานของไตล้มเหลว และเกิดอาการช็อกได้

ตามที่กล่าวไว้ข้างต้นว่า *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ที่สำคัญในอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (gram positive bacteria) มีรูปร่างเป็นทรงกลม (coccus) อยู่รวมกันเป็นพวงคลายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming bacteria bacterial spore ด้วย) ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ในที่ที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ ยาที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อดังกล่าวลำดับแรกเป็นการใช้ยาร่วมกันสามชนิด คือยาในกลุ่ม proton pump inhibitor เช่น omeprazole และ ยาปฏิชีวนะ ได้แก่ clarithromycin และ amoxicillin หรือ metronidazole อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของการรักษาทางยาลดลง เนื่องจากปัญหาการดื้อยาของเชื้อซึ่งเป็นสาเหตุใหญ่ของความล้มเหลวในการรักษาโรค และยาปฏิชีวนะยังส่งผลถึงเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหารชนิดอื่น และก่อให้เกิดอาการข้างเคียง เช่น ท้องเสีย คลื่นไส้ อาหารไม่ย่อย การศึกษาที่ผ่านมาจึงมีนักวิจัยพยายามหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าว มีการศึกษาแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์แทนการใช้ยารักษาในปัจจุบัน โดยการนำสมุนไพรมาเตรียมเป็นสารสกัด ซึ่งสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดมีสมบัติต้านจุลินทรีย์ อีกทั้งสารที่ได้จากธรรมชาติไม่เป็นพิษต่อเซลล์ การศึกษาสารสกัดที่ได้จากพืชสมุนไพรจึงได้รับความสนใจอย่างมาก ก่อนหน้านี้มีรายงานการศึกษาพืชสมุนไพรหลายชนิดในประเทศไทยและพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรมีศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี นักวิจัยพยายามหาแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าว จึงมีการศึกษาแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ โดยการนำสมุนไพรมาเตรียมเป็นสารสกัด ซึ่งสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดมีสมบัติต้านจุลินทรีย์ *s.aureus* ที่เป็นสาเหตุการติดเชื้อได้ ก่อนหน้านี้มีรายงานการศึกษาพืชสมุนไพรหลายชนิดในประเทศไทยที่นิยมใช้ในการชะลอวัย โดยดูฤทธิ์การต้าน *s. aureus* และพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดมีศักยภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค *s.aureus* ได้ดี หนึ่งในพืชที่น่าสนใจคือ ถั่วดาวอินคา ซึ่งจัดเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย และมีสรรพคุณการชะลอวัย ประกอบกับที่ผ่านมามีรายงานการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้ำมันจากพืชชนิดนี้ไม่มากนัก นักวิจัยจึงมีความสนใจศึกษา

พืชถั่วดาวอินคา โดยน้ำมันสกัดจากถั่วดาวอินคา โดยงานวิจัยนี้ผู้วิจัยมุ่งหวังเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *s.aureus* ของน้ำมันสกัดจากถั่วดาวอินคา

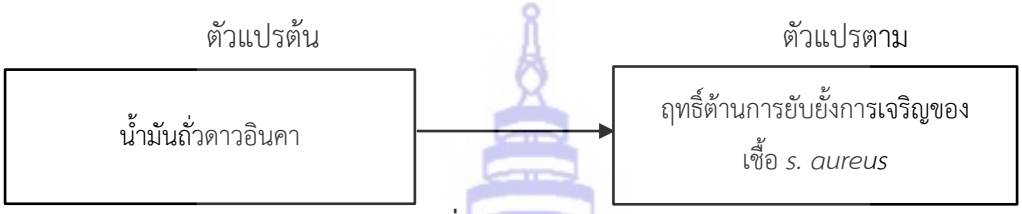
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *s.aureus* ของน้ำมันถั่วดาวอินคา

สมมติฐานงานวิจัย

น้ำมันถั่วดาวอินคามีฤทธิ์ต้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *s.aureus*

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาองค์ประกอบทางไขมันของน้ำมันถั่วดาวอินคา สกัดแบบบีบเย็น 100 % ปริมาณกรดไขมันในการศึกษาอาจคลาดเคลื่อนได้ ขึ้นกับหลาย ๆ ปัจจัย เช่น น้ำมันที่ได้มาจากการสกัดมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกัน ปฏิกิริยาการออกซิเดชั่นระหว่างการศึกษา ทำให้องค์ประกอบของไขมันเปลี่ยนแปลงไป เป็นต้น สำหรับการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและการวิเคราะห์ผลการทดสอบ จะมีการทำการทดสอบซ้ำจำนวน 5 ครั้ง และนำข้อมูลที่ได้จาก inhibition zone ไปหาค่าเฉลี่ย mean score และ โดยวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Independent t-test ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบแบบรวมกลุ่ม โดยมีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (compare means) โดยใช้สถิติ independent t-test เป็นการทดลองที่ตัวอย่าง (sample) แต่ละตัวเป็นอิสระต่อกัน เพื่อทดสอบข้อมูล 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน โดยทดสอบว่า ค่าเฉลี่ย (mean score) มีความแตกต่างกันหรือไม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการทดลองนี้ใช้วิธีทดสอบ Independent t-test เพื่อ (1) ดูความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ ได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) และ (2) เพื่อดูความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันถั่วดาวอินคาความเข้มข้น 100% กับยาปฏิชีวนะ Vancomycin 5 µg ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*s.aureus*) โดยทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อน้ำมันถั่วดาวอินคา และยาปฏิชีวนะ Vancomycin 5 µg

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างพืช น้ำมันถั่วดาวอินคา (sachi incha) จากอำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย

1. การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Disc diffusion method

1) ถ่ายเชื้อ *s. aureus* ลงในอาหาร Tryptic soy broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร (OD_{600} = 0.320) เพื่อให้เชื้อมีความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 10^8 CFU/mL

2) นำไม้พันสำลีจุ่มลงในเชื้อ *s. aureus* จากนั้นป้าย (swab) เชื้อลงบนอาหาร Tryptic soy agar

3) นำสารสกัดน้ำมันถั่วดาวอินคาปริมาตร 30 ไมโครลิตร

2. แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

ทำ 2-fold serial dilution ใน 96-well plate ด้วยอาหาร Muller Hinton Broth (MHB) แหล่งที่มาสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

3. การเตรียมเชื้อลงใน Plate

1) Label ชื่อเชื้อ / ชื่อสารต้านแบคทีเรียและความเข้มข้น วันที่ทำการทดลอง

2) นำ Forceps จุ่มใน 95% Alcohol ลนไฟ และรอให้เย็น

3) คีบ Sterile Paper Disc มาวางบน Sterile plate จากนั้นดูดสารต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ Micropipette ใช้สารต้านเชื้อแบคทีเรีย 10 microliters

4) ค่อย ๆ หยดสารต้านเชื้อแบคทีเรียลงบน paper disc จนกว่าจะซึมเข้าหมด

5) นำ Forceps มาฆ่าเชื้ออีกครั้ง จากนั้นรอให้เย็น

6) ย้าย paper disc ที่หยดสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้ว วางบน NA Plate ที่เรา streak เชื้อไว้ โดยระวังสารปนเปื้อนภายนอกเข้ามาใน plate

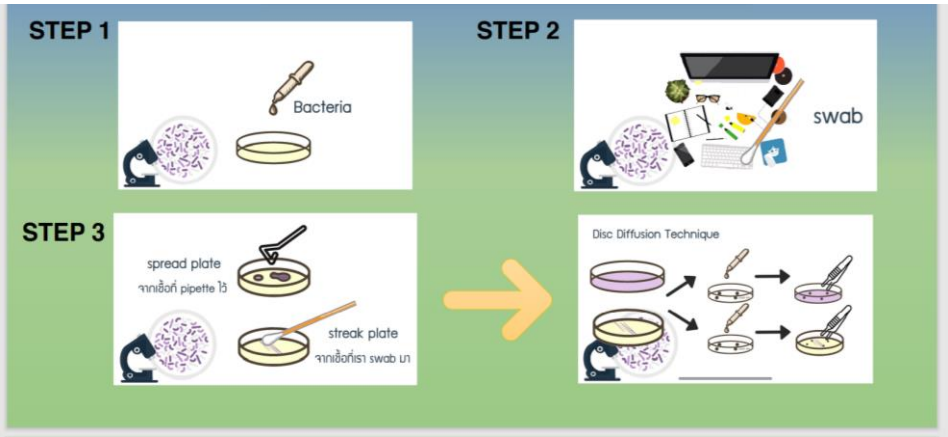
7) หลังจากนำเทคนิค disc diffusion แล้ว นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยคว่ำ plate ป้องกันไม่ให้ไอน้ำหยุดลงบน medium

8) ผลที่ได้ ถ้าเกิด clear zone ขึ้นรอบ ๆ paper disc แสดงว่า สารต้านนั้นฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

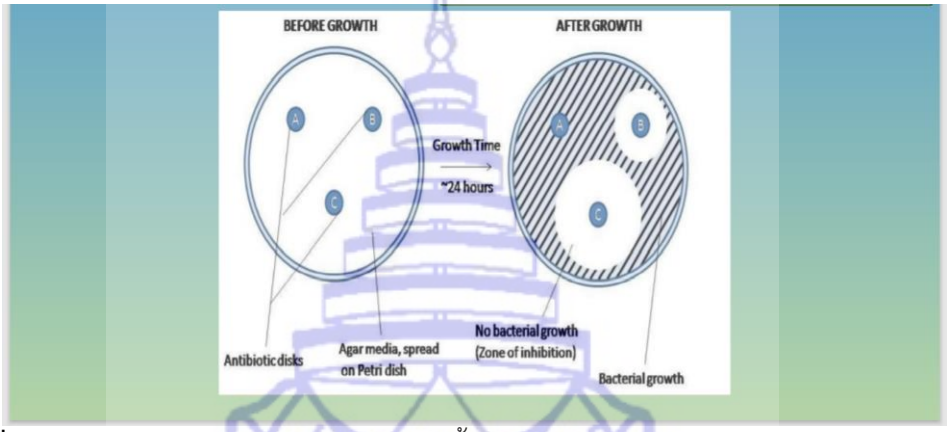
3. วิธีการทดลอง

1) ใช้เทคนิค disc diffusion method

2) ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง มีลำดับขั้นตอน ตามภาพที่ 1 และภาพที่ 2



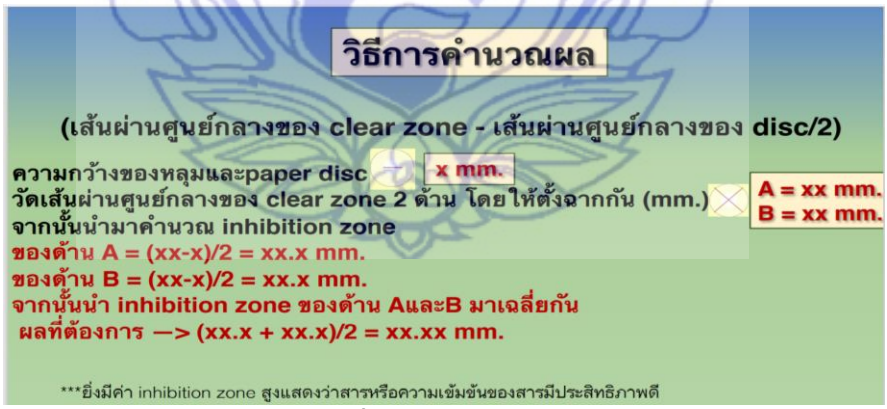
ภาพที่ 1 ลำดับขั้นตอนการทดลอง



ภาพที่ 2 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อก่อนและหลังการทดลองในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

4. วิธีการคำนวณผล และวิธีการแปลผล

ประสิทธิภาพของสารต้านแบคทีเรีย คำนวณได้จาก inhibition zone (เส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone – เส้นผ่านศูนย์กลางของ disc หาร 2) ตามภาพที่ 3



ภาพที่ 3 วิธีการคำนวณผล

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ทำการทดสอบซ้ำจำนวน 5 ครั้ง และนำข้อมูลที่ได้จาก inhibition zone ไปหาค่าเฉลี่ย mean score โดยวิเคราะห์ข้อมูล แบบ Independent t-test ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบแบบรวมกลุ่ม โดยมีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (compare means) โดยใช้สถิติ independent t-test เป็นการทดลองที่ตัวอย่าง (sample) แต่ละตัวเป็นอิสระต่อกัน เพื่อทดสอบข้อมูล 2 กลุ่ม ที่เป็นอิสระต่อกันโดยทดสอบว่า ค่าเฉลี่ย (mean score) มีความแตกต่างกันหรือไม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการทดลองนี้ใช้วิธีทดสอบ Independent t-test เพื่อ (1) ดูความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ ได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) และ (2) เพื่อดูความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันถั่วดาวอินคาความเข้มข้น 100% กับยาปฏิชีวนะ Vancomycin 5 µg ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*s.aureus*) โดยทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อน้ำมันถั่วดาวอินคา และยาปฏิชีวนะ Vancomycin 5 µg

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิธีการทดสอบ

เตรียมสารละลายตัวอย่างทำ 2-fold serial dilution ใน 96-well plate ด้วยอาหาร Muller Hinton Broth (MHB)

1) Incubate กับเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ที่ความเข้มข้น 10^6 CFUs/mL

2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3) เลือกความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง ที่ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสังเกตได้จากสารละลายมีลักษณะใส ไม่ขุ่น โดยความเข้มข้นของสารละลายน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ คือ ค่า MIC

4) Spot สารละลายตัวอย่างที่ incubate กับแบคทีเรียลงบนอาหาร Muller Hinton Agar (MHA)

5) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6) เลือกความเข้มข้นของสารละลายน้อยที่สุด ที่ไม่พบโคโลนีเจริญเติบโตบนอาหารเป็นค่า MBC

2. ผลการทดสอบ

Sample Name: SACHA INCHI OIL; Sample Identification : Oil

วิธีการทดสอบ (1) Test Method: CLSI M7 – A9: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (MIC)

ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) หมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนผสมหรือสารต้านจุลชีพที่เป็นแบคทีเรีย (ป้องกันการเจริญเติบโตที่มองเห็นได้ของแบคทีเรีย) MIC ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของสารต้านจุลชีพของสารประกอบต่าง ๆ โดยการวัดผลของการลดความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ/น้ำยาฆ่าเชื้อในช่วงเวลาที่กำหนดในแง่ของการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์

ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียขั้นต่ำ (MBC) คือความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านแบคทีเรียที่จำเป็นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในระยะเวลา เช่น 18 ชั่วโมงหรือ 24 ชั่วโมง ภายใต้เงื่อนไขชุดหนึ่ง สามารถกำหนดได้จากการเจือจางน้ำของการทดสอบ MIC โดยการเพาะเลี้ยงย่อยไปจนถึงจานวุ้นที่ไม่มีสารทดสอบ MBC ถูกระบุโดยการกำหนดความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านแบคทีเรียที่ลดความอยู่รอดของหัวเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นโดยการลดลงที่กำหนดไว้ล่วงหน้า เช่น ≥99.9% MBC เป็นส่วนเสริมของ MIC; ในขณะที่การทดสอบ MIC แสดงให้เห็นถึงระดับต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างมาก MBC แสดงให้เห็นถึงระดับต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่ส่งผลให้จุลินทรีย์ตาย

3. วิธีการทดสอบ

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) และทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ ได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) โดยวิธี CLSI M7 – A9: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (MIC) โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างทำ 2-fold serial dilution ใน 96-well plate ด้วยอาหาร Muller Hinton Broth (MHB) และดำเนินการตามลำดับดังนี้ (1) Incubate กับเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ความเข้มข้น 10^6CFUs/mL; (2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง; (3) เลือกความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง ที่ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย สังเกตได้จากสารละลายมีลักษณะใส ไม่ขุ่น โดยความเข้มข้นของสารละลายน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ คือ ค่า MIC; (4) Spot สารละลายตัวอย่างที่ incubate กับแบคทีเรียลงบนอาหาร Muller Hinton Agar (MHA); (5) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง; และ (6) เลือกความเข้มข้นของสารละลายน้อยที่สุด ที่ไม่พบโคโลนีเจริญเติบโตบนอาหาร เป็นค่า MBC

ผลการทดสอบ

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งและความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ของตัวอย่างต่อแบคทีเรียหลังจาก24ชั่วโมงของการบ่ม

Sample	Test organism	MIC	MBC
SACHA INCHI OIL	*s.aureus*	>100%	>100%

หมายเหตุ *MIC and MBC are percentage values compared with initial concentration of the sample

ผลการทดสอบตามตารางที่ 1 พบว่า เปอร์เซ็นต์ของ MIC และ MBC ต่อความเข้มข้นเริ่มต้นของตัวอย่าง จะมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) ที่มากกว่า 100% และทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ ได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) มากกว่า 100% เช่นเดียวกัน ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันถั่วดาวอินคาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ที่ 100% หรือความเข้มข้นสูงสุด ไม่สามารถจะยับยั้ง *s.aureus* ได้ และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) มากกว่า 100% เช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า การใช้น้ำมันถั่วดาวอินคาที่ความเข้มข้นสูงสุด (100%) ไม่สามารถจะฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *s.aureus* ได้

วิธีการทดสอบ (2) และ (3) ตามตารางที่ 2 และภาพที่ 1 Test Method: CLSI M2 - A11: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests (Clear zone test)

ตารางที่ 2 การยับยั้งค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างทดสอบและสารควบคุมเชิงบวกต้านสแตปฟิโลคอคคัสออเรียสสายพันธุ์ 6538

	Zone of inhibition (millimeter)*
	Staphylococcus aureus
1. Test Sample	
Sacha Inchi Oil	0.00±0.00
	(Viable bacteria were observed under and around the tested disk of the specimen)
2. Positive control	
Vancomycin 5 µg	12.88±0.49

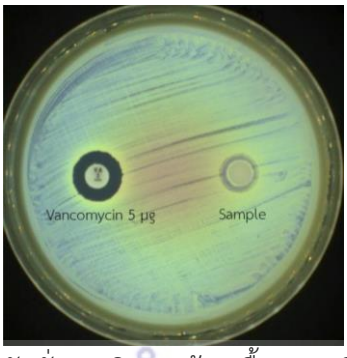
หมายเหตุ 1) Zone of inhibition (millimeter) = diameter of the zones of complete inhibition, including the diameter of the disk.

2) Dash (–) indicates zone of inhibition was not observed

3) Diameter of the disks used was 6 mm

4) * size of zone of inhibition calculated from 5 replicates

วิธีทดสอบ (3) Test Method: CLSI M2 - A11: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests (Clear zone test)



ภาพที่ 1 การแพร่ของตัวอย่างน้ำมันถั่วดาวอินคา ต้านเชื้อสแตปฟิโลคอคคัสออเรียสสายพันธุ์ 6538

ผลการทดสอบ

การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันถั่วดาวอินคาความเข้มข้น 100% โดยใช้วิธี disc diffusion method

วิธีการทดสอบนี้เพื่อทดสอบความไวของยาน้ำมันถั่วดาวอินคาที่มีความเข้มข้น 100% เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Vancomycin 5 µg ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*s.aureus*) โดยทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อน้ำมันถั่วดาวอินคา และยาปฏิชีวนะ Vancomycin 5 µg โดยอ้างอิงเกณฑ์มาตรฐานการตรวจติดตามการเกิดวงรอบหยดสารต้านจุลชีพ (clear zone) จาก The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) และประเมินผลทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Independent-Sample T-test ผลการทดสอบโดยใช้วิธี disc diffusion พบว่า น้ำมันถั่วดาวอินคา (SACHA INCHI OIL) ที่ความเข้มข้น 100% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ได้ มีค่าความกว้างของโซนยับยั้ง (Zone of inhibition) 0.00±0.00 มิลลิเมตร ในขณะที่ยาปฏิชีวนะ Vancomycin 5 µg สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *s.aureus* ได้ชัดเจนโดยมีค่าความกว้างของโซนยับยั้ง (Zone of inhibition) 12.88±0.49 มิลลิเมตร ที่ปริมาตรยาปฏิชีวนะ 5 µl ภายในระยะเวลาเพาะเลี้ยงเชื้อตามกำหนด

ดังนั้น จากผลการทดสอบจึงสรุปได้ว่า น้ำมันถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 100% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *s.aureus* ได้

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการวิจัย

1) การทดสอบเปอร์เซ็นต์ MIC และ MBC

ผลการทดสอบค่า MIC และ MBC ของน้ำมันถั่วดาวอินคา พบว่า เปอร์เซ็นต์ของ MIC และ MBC ต่อความเข้มข้นเริ่มต้นของตัวอย่าง *s.aureus* จะพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration: MIC) จะต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่า 100% และทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ ได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) จะพบว่าต้องมีความเข้มข้นมากกว่า 100% เช่นเดียวกัน ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันถั่วดาวอินคาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ที่นำมาใช้ 100% หรือความเข้มข้นสูงสุด ไม่สามารถจะยับยั้ง *s.aureus* ได้ และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) ที่ความเข้มข้นต้องมากกว่า 100% เช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า การใช้น้ำมันถั่วดาวอินคาที่ความเข้มข้นสูงสุด (100%) ไม่สามารถจะฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *s.aureus* ได้

2) การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันถั่วดาวอินคาความเข้มข้น 100% โดยใช้วิธี disc diffusion method

วิธีการทดสอบนี้เพื่อทดสอบความไวของยาน้ำมันถั่วดาวอินคาที่มีความเข้มข้น 100% ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*s.aureus*) โดยทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อน้ำมันถั่วดาวอินคา โดยอ้างอิงเกณฑ์มาตรฐานการตรวจติดตามการเกิดวงรอบหยดสารต้านจุลชีพ (clear zone) จาก The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) และประเมินผลทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Independent-Sample t-test ผลการทดสอบโดยใช้วิธี disc diffusion พบว่า น้ำมันถั่วดาวอินคา (SACHA INCHI OIL) ที่ความเข้มข้น 100% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ได้ มีค่าความกว้างของโซนยับยั้ง (Zone of inhibition) 0.00±0.00 มิลลิเมตร ภายในระยะเวลาเพาะเลี้ยงเชื้อตามกำหนด

ดังนั้น จากผลการทดสอบจึงสรุปได้ว่า น้ำมันถั่วดาวอินคา ความเข้มข้น 100% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *s.aureus* ได้

2. อภิปรายผลการวิจัย

การทดสอบเปอร์เซ็นต์ MIC, MBC และการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันถั่วดาวอินคาความเข้มข้น 100% โดยใช้วิธี disc diffusion method

จากผลการทดสอบค่า MIC และ MBC ของน้ำมันถั่วดาวอินคาเข้มข้น 100% พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันถั่วดาวอินคาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ที่นำมาใช้ 100% หรือความเข้มข้นสูงสุด ไม่สามารถจะยับยั้ง *s.aureus* ได้ และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ

แบคทีเรียได้ (MBC) ที่ความเข้มข้นต้องมากกว่า 100% เช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า การใช้น้ำมันถั่วดาวอินคาที่ความเข้มข้นสูงสุด (100%) ไม่สามารถจะฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *s.aureus* ได้

ส่วนผลการทดสอบโดยใช้วิธี disc diffusion พบว่า น้ำมันถั่วดาวอินคา (SACHA INCHI OIL) ที่ความเข้มข้น 100% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ได้ มีค่าความกว้างของโซนยับยั้ง (Zone of inhibition) 0.00±0.00 มิลลิเมตร ภายในระยะเวลาเพาะเลี้ยงเชื้อตามกำหนด ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า น้ำมันถั่วดาวอินคาความเข้มข้น 100% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *s.aureus* ได้

ซึ่งผลการศึกษาข้างต้นของผู้วิจัยไม่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของ Gonzalez-Aspajo et al. (2015) ที่ศึกษาเรื่อง น้ำมันถั่วดาวอินคามีผลต่อการเกาะติดของ *Staphylococcus aureus* ต่อผิวหนังมนุษย์และ keratinocytes ในหลอดทดลอง (Sacha Inchi Oil (*Plukenetia volubilis L.*), effect on adherence of *Staphylococcus aureus* to human skin explant and keratinocytes in vitro)" ซึ่งผลการศึกษาการตรวจทางห้องปฏิบัติการพบว่า ถั่วดาวอินคาและ น้ำมันมะพร้าว ทดสอบแล้วไม่เป็นพิษต่อเซลล์ keratinocytes หรือ explants ของมนุษย์และไม่ได้ฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยถั่วดาวอินคา แต่มีฤทธิ์ในการต่อต้านการยึดเกาะ (เชิงป้องกัน) มากกว่าน้ำมันมะพร้าว ในเซลล์เคราติโนไซต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผลการแยกออก (การรักษา) ของน้ำมันทั้งสองชนิดต่อ keratinocytes แต่ ถั่วดาวอินคา ทำงานมากกว่า 5 เท่าในการแยกสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส ออกจากผิวหนังมนุษย์ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า น้ำมันถั่วดาวอินคา ไม่ได้มีผลในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย แต่การใช้น้ำมันถั่วดาวอินคา (Sacha Inchi Oil, SIO) บนเซลล์มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกาะติดของเชื้อ *s.aureus* ผลการศึกษาจึงมีแนวโน้มที่จะสนับสนุนการใช้ (Sacha Inchi Oil, SIO) ที่ไม่เจือปนแบบดั้งเดิมในการดูแลผิวหนังเพื่อต่อต้านการยึดเกาะในเชิงป้องกันเชื้อแบคทีเรียมากกว่าที่จะใช้เพื่อการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยตรง ซึ่งงานวิจัยฉบับนี้พบว่าน้ำมันถั่วดาวอินคานั้นไม่สามารถต้านแบคทีเรียได้ ซึ่งในกรณีนี้อาจจะเป็นไปได้ว่า การทดลองที่อาจเป็นแบคทีตัวเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์, มีการใช้น้ำมันคนละยี่ห้อ, หรือใช้เทคนิคการทดสอบที่แตกต่างกัน ดังนั้น ผลการวิจัยจึงไม่ได้เป็นเป็นในทิศทางเดียวกัน

3. ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

การวิจัยครั้งต่อไป จึงควรมีการนำน้ำมันถั่วดาวอินคา มาทดสอบผลการใช้งานกับผิวหนังมนุษย์ เช่น การผลิตครีมหรือน้ำมันสำหรับใช้เพื่อ skin care และทำการทดสอบการต่อต้านการยึดเกาะของเชื้อแบคทีเรียบนผิวหนังของมนุษย์จากการใช้ skin care cream หรือ skin care oil ที่ผลิตจากส่วนผสมของน้ำมันถั่วดาวอินคา

รายการอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. (2560). *น้ำมันถั่วดาวอินคา: แหล่งไขมันโอเมก้าจากพืช.* http://production.doae.go.th/ 50.Inca_peanut.pdf.

วันทนา อ่อนภิรมย์, ชัยวัฒน์ กิตติกูล และพัชรี สุนทรนันท์. (2538). การตรวจเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างอาหารโดยวิธี ELISA. *วิทยาศาสตร์ ม.ก.13*(1-3), 46-65.

Alberton, J. R., Ribeiro, A., Sacramento, L. V. S., Franco, S. L., & Lima, M. A. P. (2001). Caracterização farmacognóstica do jambolão (Syzypiam cumini (L.) Skeels. *Rev Bras Farmacogn, 11,* 37-50.

Easmon, C. S. F., & Goodfellow, M. (1990). *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In M. T. Parker & B. I. Duerden (Eds.)*, Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity* (8th ed.). Edward Arnold.

Gonzalez-Aspajo, G., Bourdy, G., Belkhelfa, H., Haddioui-Hbabi, L., & Deharo, E. (2015). Sacha Inchi Oil (*Plukenetia volubilis L.*), effect on adherence of *Staphylococcus aureus* to human skin explant and keratinocytes in vitro. *Journal of Ethnopharmacology, 171*(2015), 330-334.

Gutierrez, J. S., Masero, J. A., Abad-Gomez, J. M., Villegas, A. & Sanchez-Guz-man, J. M. (2011). Understanding the energetic costs of living in saline envi-ronments: Effects of salinity on basal metabolic rate, body mass, and daily energy consumption of a long-distance migratory shorebird. *Journal of ExperimentalBiology, 214,* 829–835

Hanssen, H.-P., & Schmitz-Hübsch, M. (2011). Chapter 117 - Sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*) nut oil and its therapeutic and nutritional uses. In V. R. Preedy, R. R. Watson & V. B. Patel (Eds. pp. 991-994), *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc.

Siriwong, N., & Chukeatirote, E. (2009). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus. Songklanagarind Medical Journal, 27*(4), 347-358.

Todar, K. (2005). *Todar's online textbook of bacteriology: The genus bacillus*. University of Wisconsin- Madison, Department of bacteriology.

Varnam, A. H., & Evans, M. G. (1991). *Foodborne pathogens: An illustrated text*. Wolfe Publishing.

Wang, S., Zhu, F., & Kakuda, Y. (2018). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis L.*): Nutritional composition, biological activity, and uses. *Food Chem, 265*, 316-328.

Weese, J. S. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals. *ILAR Journal, 51*(3), 233-244.